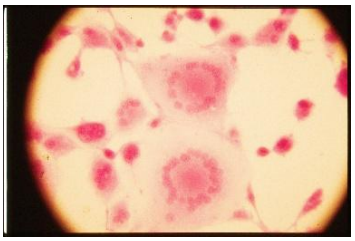
Crédit photo : Abdallah Traoré

Techniques de diagnostic pour la Peste des petits ruminants



Crédit photo : Abdallah Traoré

du 21 au 28 novembre 2012

1 semaine

Responsable scientifique

Geneviève Libeau

(UMR CMAEE)

Problématique

La peste des petits ruminants est une infection virale hautement contagieuse affectant les petits ruminants domestiques et sauvages. Dans les zones d'élevage où la maladie est enzootique, elle occasionne des pertes économiques importantes du fait des taux de morbidité et de mortalité parfois élevés. La PPR affecte près d'un milliard de petits ruminants dans le monde.

L'agent étiologique est le PPRV appartenant au genre *Morbillivirus*, dans la famille des *Paramyxoviridae*. Le diagnostic sérologique est réalisé de façon classique par ELISA de compétition (cELISA). L'isolement du virus étant difficilement envisageable en moins de trois semaines, l'identification rapide du virus directement à partir d'échantillons de terrain est possible par d'autres méthodes, incluant l'amplification génique, très sensibles et spécifiques. Il s'agit de la transcription reverse-PCR (RT-PCR), méthode dite conventionnelle et de la RT-PCR en temps réel (rRT-PCR) pour la quantification des charges virales. La RT-PCR conventionnelle produit des matrices suffisamment longues pour permettre le séquençage et l'analyse phylogénétique subséquente.

Objectifs pédagogiques

La formation porte sur l'enseignement des différentes méthodes classiques mises en œuvre pour le diagnostic sérologique et le diagnostic moléculaire du virus de la peste des petits ruminants. Cette formation inclura des protocoles et des procédures standardisés ainsi que le mode d'emploi des équipements nécessaires. Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- Formation au diagnostic sérologique de PPRV
- Connaissance des méthodes sérologiques de référence de l'OIE (séroneutralisation et cELISA)
- Formation au diagnostic moléculaire de PPRV
- Connaissance des méthodes RT-PCR conventionnelles et en temps réel
- Informations sur le séquençage et l'analyse phylogénétique de PPRV

A l'issue de cette formation, les participants doivent pouvoir établir un diagnostic dans leur laboratoire, reproduire les techniques apprises, former et encadrer le personnel de laboratoire.

«Le Cirad est centre collaborateur OIE pour le diagnostic et le contrôle des maladies animales en régions tropicales. L'organisation d'actions de formation dans ce domaine fait partie du mandat attaché à ce titre ».

Programme

La formation sera organisée et coordonnée par l'unité de recherche *Contrôle des maladies animales exotiques et émergentes* du Cirad (UMR CMAEE), Montpellier. Le programme alternera des présentations théoriques et des sessions de travaux pratiques (sérologie, titrage viral, PCR conventionnelle et PCR en temps réel).

Ci-joint un questionnaire *Formation PPR* à remplir.

Conditions d'admission

Les participants doivent être impliqués de manière active dans le diagnostic des maladies animales et posséder une expérience en biologie moléculaire. Une connaissance théorique minimale de la PCR est requise.

Les candidats doivent en outre maîtriser correctement la langue française.

Le nombre de participants est strictement limité à 8 maximum.

Sur demande, des sessions anglophones ou des sessions délocalisées au sein d'institutions partenaires peuvent être organisées dès lors qu'un nombre suffisant de participants est réuni.

Coût de la formation

Frais pédagogiques	: 1 300 €
Voyage vers Montpellier	: à chiffrer
Hébergement séjour (environ)	: prévoir un minimum de 80 € par jour

Si nécessaire, un devis personnalisé peut être établi sur simple demande.

Remarque : Le CIRAD n'est pas en mesure d'accorder des bourses. Il convient donc d'introduire, le plus tôt possible, une demande auprès :

- des autorités compétentes nationales en charge de l'élevage et/ou de l'octroi des bourses ;
- des Services de Coopération et d'Action Culturelle des Ambassades de France ;
- des ambassades d'autres pays ;
- d'organismes internationaux (FAO, PNUD, Union européenne, AIEA, BID, …) ;
- de projets de développement ou d'organisations non gouvernementales.

Modalités de candidature

Les candidatures comprenant un CV détaillé, une lettre de motivation, le questionnaire ci-joint et des indications sur l'organisme de gestion de la bourse, doivent être adressées si possible **avant le 1er octobre 2012**, au secrétariat du cours à l'adresse suivante :

CIRAD-FVI - Formation et Enseignement en Elevage et Médecine Vétérinaire en Régions Chaudes
TA A-15/B
Campus international de Baillarguet
34398 MONTPELLIER Cedex 5
France
Tel : 33 (0) 4.67.59.39.02
Fax : 33 (0) 4.67.59.37.97
E-mail : marie-caroline.estienne@cirad.fr

Enseignement en Elevage et Médecine Vétérinaire en Régions Chaudes
http://www.cirad.fr/ur/formation_elevage

FORMATION PPR :
QUESTIONNAIRE D'EVALUATION PRATIQUE [1]

I- Avez-vous une compétence technique en Biologie Moléculaire ?

- OUI
- NON

Si oui, nombre de mois d'expérience : ……

II-Quel type d'équipement avez-vous l'habitude d'utiliser ?

- Marque et type de machine : ……..
- Aucun

II- Faites-vous régulièrement des diagnostics par PCR ?

- OUI
- NON
-

Si oui,

- Sur quelles maladies? .....
- Quels gènes amplifiez-vous ? .....

IV –Donnez un des principaux avantages et inconvénients de la PCR conventionnelle ?

- Inconvénient : …….
- Avantage : ……

V- Paul a reçu au laboratoire 4 échantillons suspectés contaminés par *Mycoplasma.Pneumoniae*
Il a préparé un mix PCR et réalisé la PCR selon le tableau suivant :

MIX PCR pour 1 réaction		**Conditions de la réaction de PCR**		
Tampon PCR 10X	5µl	94°C	2 min	1 cycle
Mix dNTP Mix contenant 10mM				
de chaque dNTP):	0,5µl	94°C	30 sec	
primer spécifique sens 20µM	1µl	55°C	30sec	30 cycles
primer spécifique reverse 20µM	1µl	72°C	30sec	
Enzyme Taq DNA polymerase	0,5µl			
		72°C	7 min	
ADN	2µl	4°C	over night	
H2O	40µl			

Après la migration de 10 µl de la réaction de PCR, tous les résultats sont négatifs, y compris le contrôle positif. A la place de Paul, quelle serait votre première hypothèse pour expliquer ce résultat inattendu ?

……
……
……
……
……
……

[1] Barrer et remplir là où c'est nécessaire